Vol. XVI, No. 4. April 1940

植物研究雜誌

THE JOURNAL OF JAPANESE BOTANY

第十六卷 第四號 (通卷第百六十四號) 昭和十五年四月發行

Mikrochemischer Nachweis der Flechtenstoffe. XI. Mitteilung.

Von Y. ASAHINA

朝比奈泰彥： 地衣成分ノ顯微化學的證明法 (其十一)

Nachweis der Perlatolinsäure in Cladonia impexa HARM. und in verwandten Arten.

Die Perlatolinsäure ($C_{25}H_{32}O_7$) wurde zuerst von ASAHINA und FUZIKAWA[1] in *Parmelia cetrarioides* DEL. var. *typica* DR. entdeckt und von ASAHINA und YOSIOKA[2] synthetisiert. In keinen anderen Flechten wurde sie bisher aufgefunden. Die mikrochemische Erkennungsmethode der Perlatolinsäure wurde später von mir[3] ausgearbeitet.

Cl. impexa HARM.

Seinerzeit hatte ZOPF[4] alle Formen von *Cladonia impexa* (*laxiuscula, condensata, spumosa* und *portentosa*) chemisch untersucht und darin l- Usninsäure und einen farblosen Begleitstoff gefunden, dessen chemische Natur aber unaufgeklärt blieb. Er nannte dabei die aus f. *erinacea* isolierte, krystallisierende Substanz „ Erinacein."

Beim Extrahieren mit Aceton auf dem Objektträger und Umlösen des Extraktes aus der G. E.-Lösung (Glycerin-Eisessig) ergaben alle oben erwähnte Formen von *Cl. impexa* HARM. (SANDSTEDE, *Cl.* exsiccatæ: 76, 101, 263, 371—*laxiuscula*; 1650—*condensata*; 1048, 1318—*spumosa*; 107—*portentosa*; 1654—

1) Berichte d. Dsch. chem. Ges. 68, s. 634 (1935).
2) Berichte d. Dsch. chem. Ges. 70, s. 1823 (1937).
3) Diese Zeitschr. XIV., p. 40 (1938).
4) Apud SANDSTEDE, Abh. Nat. Ver. Brem. 1912, Bd. XXI, s. 343-346.

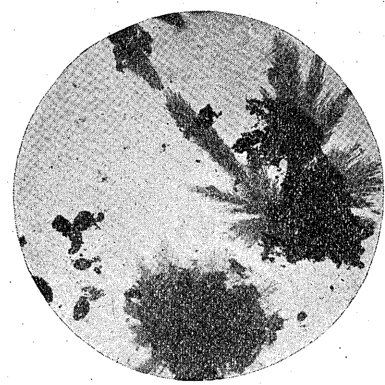


Fig. 1. Perlatolinsäure im Aceton-Extrakt der *Cl. impexa*, umgelöst unter Deckglas aus der G.E.-Lösung.

erinacea) neben Usninsäure eine farblose Substanz, die strahlig angeordnete Nadeln von gerader Auslöschung bildet (Fig. 1). Wird dasselbe Aceton-Extrakt mit einem Tropfen G.A.Q.-Lösung (Glycerin-Alkohol-Chinolin) betupft und unter dem Deckglas mehrere Stunden stehen gelassen, so wandelt sich das zunächst gebildete, dicke Oel in strahlig angeordneten, langen Nadeln von schiefer Auslösung um (Vergl. Fig. 3). Diese Eigenschaften stimmen mit denen der Perlatolinsäure gut überein, was sich auch durch die chemische Untersuchung feststellen liess.

Chemische Untersuchung von Cladonia impexa HARM.

(Bearbeitet mit H. NOGAMI)

Da die gewöhnlichen Formen von *Cl. impexa* in Japan nicht vorkommen, so haben wir Trümmer von SANDSTEDEschen Exsiccaten gesammelt und extrahiert.

Die Lagerstiele (75 g) wurden mit Aether im Soxhlet erschöpfend extrahiert und der Auszug zum Syrup eingedampft. Wird der syrup mit wenig Aceton umgerührt, so scheiden sich gelbe Krystalle aus, die abfiltriert werden (Roh-Usninsäure). Das Filtrat wird verdampft und der Rückstand entweder mit Petroläther oder mit Essigsäure (90%) in der Wärme extrahiert und noch heiss von ungelöst bleibender Usninsäure abfiltriert. Beim Erkalten scheidet sich aus dem letzten Filtrat eine farblose Substanz (Roh-Perlatolinsäure) aus.

l-Usninsäure: Beim Umlösen aus heissem Aceton bildet die gelbe Substanz schön gelbe Nadeln vom Schmp. 202°. Ausbeute ca. 170 mg. 3.150 mg Sbst., gelöst in Chloroform zu 1.5 ccm, $\alpha = -1.07°$ (1 dm, 19°). Mithin $[\alpha]\ D^{19} = -509.5°$.

Perlatolinsäure[2]: Bei wiederholtem Umlösen zunächst aus Petroläther+Benzol und dann Eisessig bildet die farblose Substanz nadelförmige Krystalle vom Schmp. 108.° Sie ist leicht löslich in Alkohol, Aether, Aceton und Benzol, schwerer löslich in Petroläther und Ligroin. Die alkoholische Lösung färbt sich mit Eisenchlorid rotviolett, mit Chlorkalk nicht. Natronlauge löst sie far-

blos und die Lösung schäumt beim Schütteln. Mit Bicarbonatlösung zusammengebracht scheidet sich das Natriumsalz ölig aus, das beim Verdünnen mit Wasser aufgelöst wird. Beim Kochen in Natronlauge unter Zusatz von Chloroform wird die Lösung rot und fluoresziert beim Wasser-Zusatz grün. Eine Mischprobe mit der synthetischen Perlatolinsäure[3] zeigte keine Depression vom Schmp. Ausbeute 80 mg.

3.800 mg Sbst.: 9.405 mg CO_2, 2.485 mg H_2O.

$C_{25}H_{32}O_7$. Ber. C 67.53% H 7.26%. Gef. C 67.50% H 7.32%.

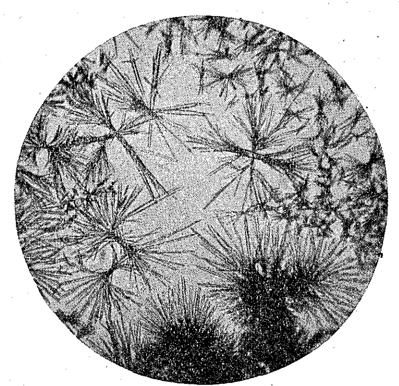


Fig. 2. Reine Perlatolinsäure, umgelöst aus dem Glycerin-Eisessig.

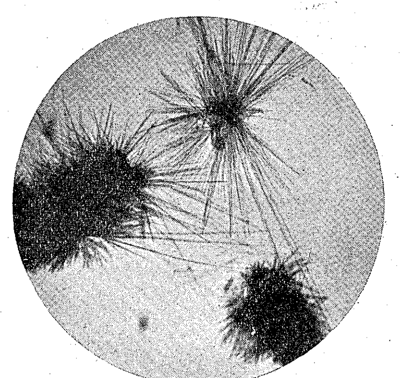


Fig. 3. Perlatolinsäures Chinolin gebildet durch Zusatz von der G. A. Q.-Lösung auf Perlatolinsäure.

Cladonia pseudoevansi ASAHINA, sp. nov.

Thallus primarius incognitus. Podetia 0.3—0.5 (—1.0) mm crassa, crebre ramosa, sæpissime dichotome, raro trichotome divisa, passim confluentia, thyrsos densissimos subglobosos usque ad 10 cm altos formantia, stramineo-cinerascentia, madefacte cinerascentia, ramulis ultimis tenuissimis, divaricatis, axillis integris vel raro perforatis, ecorticata, semipellucida, parte inferiore dispersim, parte superiore densior verruculosa. KOH—, K(Cl)+lutescens, PD—; acidum usnicum et perlatolinicum continens. Mitia gustu. Apothecia non visa. Conidangia fuscescentia, globosa vel ovoidea, base non constricta, materiam albidam continentia.

Der Habitus ist dem der *Cl. Evansi* (s. u.) täuschend ähnlich, unterscheidet sich aber davon durch den Gehalt an Usninsäure (statt Atranorin).

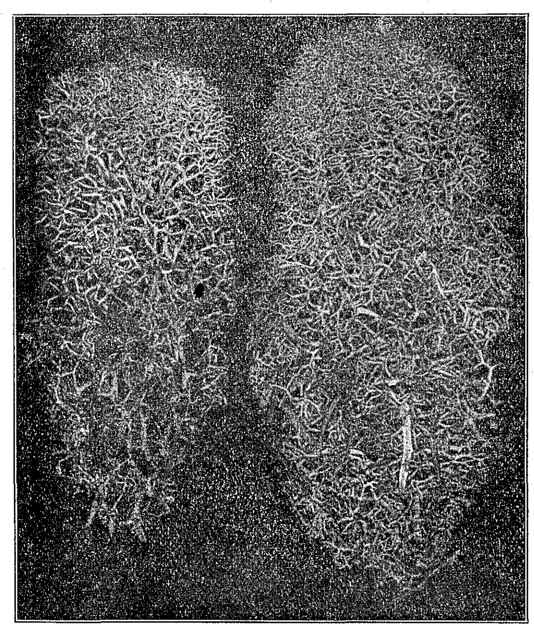


Fig. 4. *Cladonia pseudoevansi* ASAHINA (1/1)

In alpinischen Gegenden Japans findet man diese Art mit kuppeligen Lagerstielen (Fig. 4). Im Gegensatz zur daneben gesellig auftretenden, ähnlich gestalteten, schön gelb gefärbten *Cl. alpestris* sieht sie blass graugrün aus. Im Herbarium erscheint sie schwach gelblich. Die Verzweigung ist meistens dichotomisch, nur an den Spitzen selten trichotomisch. Die Oberfläche der Podetien ist feinwarzig, untere Partie nur spärlich warzig, so dass das innere Mark grösstenteils nackt ist. Äussere Wand der Pykniden rotbraun, Inhalt aber farblos, K−, PD−.

Bei der mikrochemischen Untersuchung nach unserer Methode (vergl. bei *Cl. impexa*) ergabe diese Flechte ebenfalls Usninsäure und Perlatolinsäure. (Fig. 5).

Früher fasste ich diese Art als *Cl. impexa* HARM. f. *thyrsifera*(NYL.)ABB. auf. Da aber die Verzweigung fast ausschliesslich dichotomisch ist, so ist sie als eine eigene Art zu betrachten.

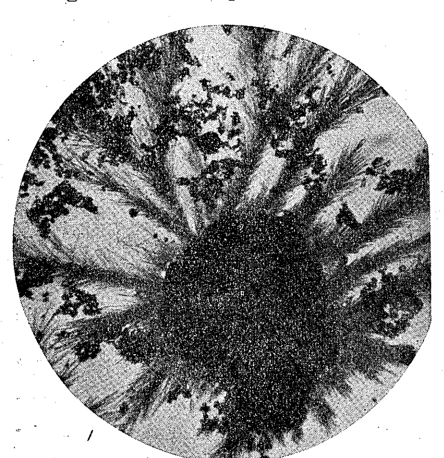


Fig. 5. Krystallbildung des Aceton-Extraktes von *Cl. pseudoevansi* durch Umlösen aus der G. E.-Lösung. Perlatolinsäure: gebüschelte Nadeln. Usninsäure: winzige Körnchen.

Cladonia Evansi des ABB.[5]

Die äussere Gestalt dieser Flechte[6] ist der der oben beschriebenen sehr ähnlich. Im Herbarium erscheint sie aber grauweisslich, nie gelblich. K+gelb, PD−.

Bei der mikrochemischen Untersuchung nach unserer Methode konnte ich darin das Atranorin (Anil-Bildung durch G.A.o-T.-Lösung) und die Perlatolinsäure (Fig. 6) nachweisen. Um die letztere sicher zu identifizieren habe ich etwa 3 g Podetien im Soxhlet mit Aether extrahiert, den Aether-Auszug verdampft, den Rückstand mit heissem Petroläther digeriert und filtriert. Aus dem eingeengten Petroläther schieden sich farblose Krystalle aus, die übereinstimmend mit der Angabe der Perlatolinsäure bei 108° schmolzen. Der in Petroläther schwerer lösliche Körper bestand hauptsächlich aus Atranorin (spiessförmige Prismen aus der G.E.-Lösung und gelbe, gekrümmte Nadeln durch G.A.o-T.-lösung).

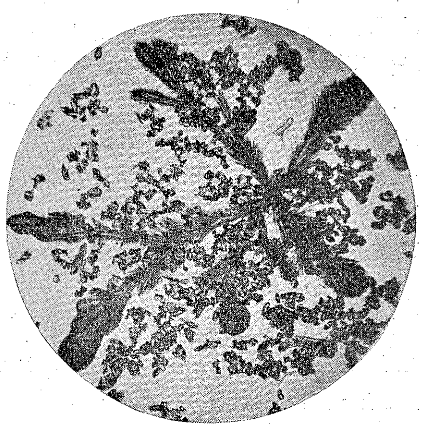


Fig. 6. Krystallbildung des Aceton-Extraktes von *Cl. Evansi* durch Umlösen aus der G.E.-Lösung.
Perlatolinsäure: scheveifartig gebüschelte Nadeln.
Atranorin: Krystallkörnchen.

Ueber den Chemismus der Cladonia alpestris RABENH.

Nach ZOPF[7] soll diese hochalpine Flechte l-Usninsäure und einen farblosen Körper, dessen Natur noch unbekannt ist, produzieren. Früher auf Grund der SANDSTEDEschen Exsiccaten haben ich[8] die PD-Reaktion von *Cladonia alpestris* als negativ angegeben. Neuerdings hat DES ABBAYES[9] darauf aufmerksam

[5] Revision monographique des *Cladonia* du Sou-genre *Cladina*, p. 71 in Bull. de la Soc. scientif. de Bretagne, t. XVI (1939).

[6] Einige Exemplare aus Fort Caswell (North Carolina) verdanke ich Herrn A.W. EVANS, wofür ich auch an dieser Stelle bestens danke.

[7] Liebigs Annalen 300, 327 (1898).

[8] Acta Phytochimica VIII, p. 52 (1934).

[9] Sich (4) p. 91.

gemacht, dass die typische Pflanze PD— ist, aber Exemplare aus Kanada, Japan und Saint Paul Insel (Beringsee) P+dauernd gelb aufweisen sollen. Da die letzteren Exemplare K— sind, so vermutet er den Erreger der P-Reaktion als Psoromsäure. Auf Grund dieses verschiedenen Chemismus stellt er für P-positive Exemplare f. *aberrans* DES ABBAYES auf.

Bei näherer Untersuchung der *Cl. alpestris*-Exemplare aus Japan, fand ich zehn von 13 Stücken P+gelb und nur drei P—. Ausserdem lieferten alle P-positive Exemplare beim Extrahieren mit Aceton auf dem Objektträger und Umlösen unter Deckglas aus Glycerin-Eisessig (G.E.-Lösung) neben den gelben Usninsäure-Krystallen farblose, strahlig angeordnete lange Nadeln von gerader Auslöschung (Fig. 7).

Beim Extrahieren von 49 g japanischer *Cl. alpestris* (PD+) mit Aether schieden sich aus dem Auszug 0.55 g gelbe Krystalle aus, die sich durch die Bestimmung des Drehungsvermögens als l-Usninsäure erkennen liess. 10.7 mg Sbst. gelöst in Chloroform zu 10 ccm. $\alpha = -0.52°$ (22°, 1 dm). Mithin $[\alpha]_D^{22} = -485.9$.

Die ätherische Mutterlauge hinterliess beim Verdampfen einen krystallinen Rückstand 10.08 mg, der beim Umlösen aus Alkohol, farblose Nadeln vom Schmp. 265° bildet. Sie lösen sich in conz. Schwefelsäure mit gelber Farbe. Die alkoholische Lösung färbt sich mit Eisenchlorid purpurrot. Beim Erhitzen unter Zusatz von der G.A.Q.-Lösung (Glycerin-Alkohol-Chinolin) bildet die Substanz Chinolinsalz in Form von gelben, haarfeinen, gekrümmten Trichiten (Vergl. Fig. 10). All diese Eigenschaften stimmen mit denen der Psoromsäure überein[10]

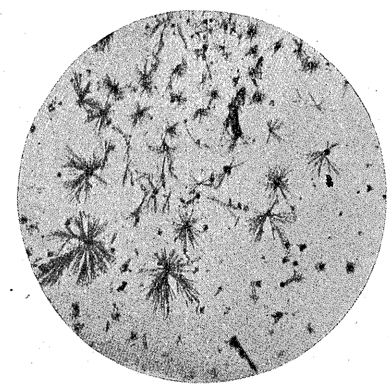


Fig. 7. Psoromsäure-Krystall im Aceton-Extrakt der japanischen *Cl. alpestris* f. *aberrans*, umgelöst aus der G.E.-Lösung.

Bei der erneuten Prüfung der SANDSTEDEschen Exsiccaten der *Cl. alpestris* ergaben alle PD negativ: 110, 667, 565,*

10) Zur Erkennung der Psoromsäure habe ich (diese Zeitschr. XIV. (1938), s. 656–657) früher den Krystallhabitus aus der G.E.-Lösung und den der o-Toluidin.

823, 877, 1020, 1146, 1220,* 1232, 1462, 1463, 1567, 1701, 1714, 1782, 1797, 1810, 1811.

Bei der Mikro-Extraktion mit Aceton und darauffolgendem Umlösen des Extraktes unter dem Deckglas aus der G.E.-Lösung (Glycerin-Eisessig) lieferten die oben erwähnten Exemplare (ausgenommen 565* und 1220*) zwei Arten farblosen Krystalle, deren chemischer Natur uns noch unbekannt ist. Die eine (Krystalle A) weist einen schneekrystallähnliche Habitus auf, während die andere (Krystalle B) sich strahlig anschiessende oder schweifförmig gebündelte Nadeln bildet. Die Krystalle B sind der Psoromsäure oder der Perlatolinsäure sehr ähnlich, von der ersteren unterscheiden sich aber durch PD—. Je nach den Exemplaren schwanken die Mengenverhältnisse der Krystalle A und

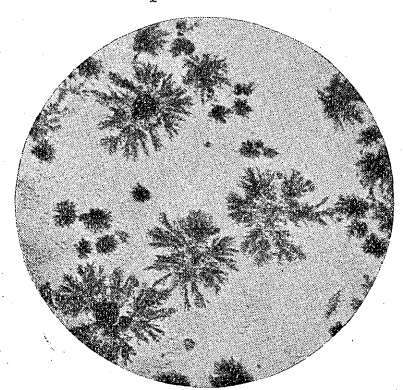


Fig. 8. Farbloser Bestandteil von der europäischen *Cl. alpestris* (P—), umgelöst aus der G.E.-Lösung (Krystalle A).

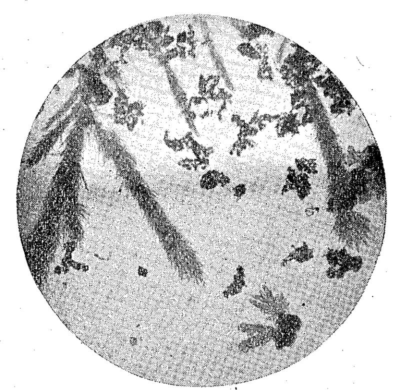


Fig. 9. Farbloser Bestandteil von der europäischen *Cl. alpestris* (P—), umgelöst aus der G.E.-Lösung (Krystalle B).

Verbindung nebst den Reaktionen K— und PD+gelb zu Rate gezogen. Nun hat es sich gezeigt, dass das Chinolinsalz zum gleichen Zweck sehr brauchbar ist. Betupft man nämlich das psoromsäurehaltige Extrakt mit einem Tropfen G. A. Q,-Lösung und kurze Zeit über die Mikroflamme erhitzt, so erscheint das Chinolinsalz in Form von tief gelben, haarfeinen, gekrümmten Trichiten (Fig. 10). Aehnlich verhält sich das Atranorin gegen G.A.Q.-Lösung, indem es dabei strahlig gruppierte, gelbe Nadeln (Fig. 11) bildet. Jedoch sind die Nadeln von Atranorin-Chinolin viel breiter als die des psoromsauren Salzes, was man durch direkten Vergleich der beiden leicht von einander unterscheiden kann. Indessen ist es nicht leicht, die Psoromsäure in Gegenwart von der viel Usninsäure durch die Chinolinsalzbildung nachzuweisen.

B ziemlich stark, so dass man oft nur die prädominierenden beobachten kann. (Fig. 8 u. 9)

Die drei PD-negative Exemplare aus Japan (Hondo, Prov. Mutu, Mt. Hakkoda ; Süd-Sachalin, Mt. Suzuya; Korea, Mt. Hakutosan) enthielten auch die Krystalle B, sodass sie mit der PD-negativen, europäischen *Cl. alpestris* im Zusammenhang stehen oder sogar identisch mit ihr.

Aus physiologischem Standpunkt weicht also *Cl. alpestris* f. *aberrans* von der PD-negativen *Cl. alpestris* RABENH. deutlich ab.

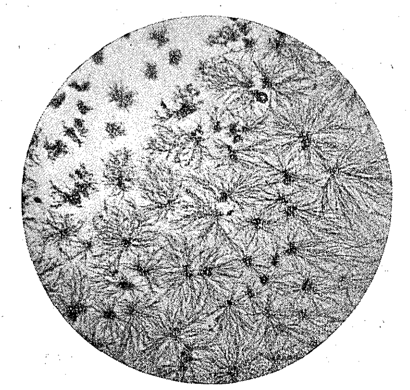


Fig. 10. Psoromsäures Chinolin.

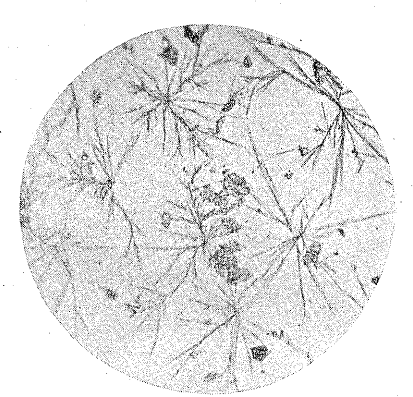


Fig. 11. Atranorin-Chinolin.

摘　要

地衣「デプシド」ノ一ツデアル「ペルラトリン酸」ハ從來 *Parmelia cetrarioides* DEL. v. *typica* DR 中ニノミ見出サレテ居タガ今回歐州産 *Cladonia impexa* HARM. 中ニ左旋ウスニン酸ト共存シテ居ルコトガ明カトナツタ。以前 ZOPFガ *Cl. impexa* ノ一型 f. *erinacea* カラ分離シテ「エリナツェイン」ト命名シタモノハ矢張リ「ペルラトリン酸」デアツタロウ。又本邦高山ニ産スル地衣デ蛇籠ヲ並ベタヤウナ生態ノみやまはなごけト云ハルヽモノハ大抵 *Cladonia alpestris* RABENH. ト片附ケルノガ通例ダガ、生育原地デ觀察スルト一種（甲）ハ全體明ニ黄色ガ現ハレ、他ノ一種（乙）ハ全體淡灰綠色デアル。コレヲ腊葉ニシテ見ルト甲ハ依然トシテ帶黄色デ枝ノ先端ニ於テ濃ク染マル。乙ハ乾燥後ハ稍黄味ガヽルガ甲ニ比較スレバ遙ニ淡イ。又甲ノ分枝法ハ多叉性 polytom デ 3-4-5 岐シ枝ノ先端少クモ 3-4 ニ平等ニ分枝シ其中央ニ孔ガアル。乙ハ主トシテ二叉性デ尖端ハ時ニ三叉ノコトモアリ穿孔ハ稀デアル。更ニ明カナ差ハ甲ハ PD＋

黄デ「プソローム酸」ヲ含ミ乙ハ PD－ デ「ペルラトリン酸」ヲ含ム其他兩者共ニ左旋「ウスニン酸」ヲ含ンデ居ル。此性質カラ甲ハ *Cl. alpestris* RAB. f. *aberrans* DES ABB. ト同定スベク又乙ハ北米產ノ *Cl. Evansi* DES ABB. ニ形態ガ全ク一致スルニ不拘含有成分ヲ異ニシ從テ反應モ違フカラコレヲ *Cl. pseudoevansi* ASAHINA トシテ新種トシタ。

	Cl. Evansi	*Cl. pseudoevansi*
色（乾燥時）	灰白色	淡藁黄色
KOH	＋(黄色)(アトラノリン)	－
K(C)	－	＋淡黄（ウスニン酸）